

miRNA-200b 在上皮来源恶性肿瘤中的研究进展*

常 靓 吕雅蕾 王玉栋 综述 刘 巍 审校

摘要 microRNA 是机体内源性表达的、长度为18~25个核苷酸的非编码单链小分子RNA。通过完全或不完全互补的方式与靶基因结合并使其mRNA裂解或抑制其蛋白翻译,进而在转录后水平调控靶基因的表达,已经作为基因表达的强力调控因子成为肿瘤领域的研究热点。近年来,miR-200家族在上皮来源恶性肿瘤中的表达和功能研究逐渐成为焦点,如研究其在肿瘤细胞增殖、侵袭转移等方面的作用机制和靶点。miRNA-200b是miRNA-200家族具有代表性的一员,本文对miRNA-200b结构特点、作用机制及其在多种上皮来源肿瘤中的研究情况进行综述。

关键词 RNA-200b 肿瘤 作用机制

doi:10.3969/j.issn.1000-8179.2012.17.016

Research Advances on miRNA-200b in Malignant Tumors of Epithelial Origin

Liang CHANG, Yalei LU, Yudong WANG, Wei LIU

Correspondence to: Wei LIU; E-mail: Hebeiliuwei@hotmail.com

Department of Medical Oncology, The Fourth Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050011, China

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 81172333)

Abstract MicroRNAs (miRNAs) are small endogenous regulatory RNAs composed of approximately 18 nucleotides to 25 nucleotides, and are highly conserved non-coding RNAs, which regulate gene expression in post-transcriptional processing through complete or incomplete combination with the target genes. A strong regulatory factor, miRNA has become a hotspot in tumor research. In recent years, the miRNA-200 family has played important roles in the expression and function of tumors of epithelial origin. For example, the mechanism and targets in tumor cell proliferation, invasion, and metastasis have been investigated. The miRNA-200b is a member of miRNA-200 family. In this article, the latest advances in structural features and mechanism of miRNA-200b and the relationship between miRNA-200b and tumors of epithelial origin were reviewed.

Keywords miRNA-200b; Tumor; Mechanism

microRNA(miRNA)是一类分布广泛、机体内源性表达、长度为18~25个核苷酸的非编码单链小分子RNA,参与基因转录后水平的调控。仅占人类基因1%的miRNA分子,却可能调控着人类三分之一以上基因的表达、修饰、转录和翻译^[1]。众多研究表明其与人类恶性肿瘤的发生、发展关系密切^[2]。自1993年在线虫中发现第一种microRNA(命名为lin-4)以来至今不过十余年时间,但作为医学和生物学的明星分子,miRNA已成为近年来生命科学的前沿课题、肿瘤领域的研究热点。miR-200家族在上皮来源恶性肿瘤(如消化系肿瘤、卵巢癌、子宫内膜癌等)中的表达和功能也已成为研究的热点。其中miRNA-200b是miRNA-200家族的一员,在多种上皮来源恶性肿瘤的研究中取得了较大的进展,现将其结构特点、作用机制及其在多种肿瘤中的研究情况综述如下。

1 miRNA-200b 概述

miRNA-200b是miRNA-200家族5个成员之一,

定位于人1号染色体。根据5'末端种子区域核苷酸序列不同,miRNA-200家族分为2个亚家族:miRNA-200a/141和miRNA-200bc/429。这2个亚族种子序列仅相差1个核苷酸(C和U),分别是AACACU和AAUACU。miRNA-200b基因序列为5'-UAAUACU GCCUGGUAUGAUGAC-3'。

miRNA-200家族中miR-200a、miR-200b和miR-429定位于人1号染色体区域(1p36.33),miR-200c和miR-141则定位于人12号染色体区域(12p13.31),这恰恰是2个在恶性肿瘤中经常出现点突变、染色体易位或缺失的区域^[3]。因此,研究其在上皮来源肿瘤中的发生发展、侵袭转移以及逆转耐药等方面的作用靶点与调控机制成为亟待解决的热点问题。

2 miRNA-200b 作用机制

miRNA在细胞核和细胞质分别生成^[4],通常由编码miRNA的基因在RNA聚合酶II的作用下转录生成具有茎-环结构(stem-loop structure)的初级miRNA

作者单位:河北医科大学第四医院肿瘤内科(石家庄市050011)

*本文课题受国家自然科学基金(编号:81172333)资助

通信作者:刘巍 Hebeiliuwei@hotmail.com

(pri-miRNA), pri-miRNA 在细胞核内被 RNase III DrosA 酶切割为大小约 70 ~ 90 个核苷酸的具有发夹结构的前体 miRNA (pre-miRNA), 并在依赖 Ran-GTP 转运蛋白 Exportin-5 的作用下由细胞核转运到细胞质中, 在 RNase III Dicer 酶的作用下, pre-miRNA 被剪切成 21 ~ 25 个核苷酸长度的成熟双链 miRNA, 最后双链 miRNA 分子被解链, 其中一条功能链进入 RNA 诱导的沉默复合体 (RNA-induced silencing complex, RISC) 中形成 miRNP 复合体, Argonaute 蛋白质家族在其中发挥了重要作用。miRNP 复合体对靶基因有两种作用方式, 一种是通过完全互补的方式与靶基因结合使其 mRNA 裂解, 一种是通过不完全互补的方式与靶基因结合从而抑制其蛋白翻译, 进而在转录后水平调控靶基因的表达^[5]。

上皮间质转化 (epithelial-mesenchymal transition, EMT) 指具有极性的上皮细胞失去其极性和细胞间连结, 重组其细胞骨架, 在形态学上转换成为具有活动能力的间质细胞, 并获得侵袭和迁移能力的过程。EMT 在胚胎发育、创伤修复与组织再生、上皮来源肿瘤的侵袭转移过程中均发挥着重要的作用^[6]。2008 年 Park 等^[7]通过对 9 种肿瘤的 60 个细胞系中 miRNA 的表达水平进行分析, 研究发现间质型肿瘤细胞中 miR-200 家族表达水平与上皮型肿瘤细胞相比出现明显下调, 表明其可作为区分上皮型和间质型肿瘤细胞的生物标志物, 并认为 miR-200 家族 5 个成员是肿瘤细胞中 EMT 过程的关键调控因子, 与维持细胞的上皮特性密切相关, miR-200 低表达可引起 EMT 的发生^[8]。研究发现 5 个家族成员单独作用可以阻止 EMT 的改变, 协同作用可以调节 ZEB1 和 ZEB2 的表达^[9]。ZEB1 和 ZEB2 均含有锌指结构, 是能结合到靶基因启动子区 E-box 的转录因子, 通过与 E-cadherin 基因启动子区结合而抑制其转录, 降低 E-cadherin 蛋白的表达, 从而促进 EMT 的发生。Bindels 等^[10]研究报道显示 miR-200 家族主要通过结合二者 mRNA 的 3' 非编码区 (3'UTR) 来抑制 ZEB1 和 ZEB2 的表达, 从而提高 E-cadherin 水平而逆转 EMT 过程, 降低肿瘤细胞侵袭转移的能力。

miRNA 分子多定位于癌相关基因组区及基因组不稳定区, 几乎所有肿瘤均存在 miRNA 的表达异常, 高表达或低表达于正常组织, 从而发挥癌基因或抑癌基因的调控作用。多项研究表明 miR-200b 在某些肿瘤中低表达, 如肝癌和肾细胞癌^[11-12]; 而在一些肿瘤中则呈现高表达水平, 如膀胱癌和宫颈癌等^[13]。miR-200 家族成员在不同上皮来源恶性肿瘤, 以及同一类肿瘤不同发展阶段中的差异表达和作用值得深入研究和思考。

3 miRNA-200b 与上皮来源肿瘤

3.1 miRNA-200b 与卵巢癌

卵巢癌是女性生殖系统三大恶性肿瘤之一, 威胁着女性的生命, 卵巢癌的侵袭转移是患者死亡的重要因素, 但其具体机制仍不是十分清楚。Iorio 等^[14]应用 miRNAs 芯片、Real-time PCR 等方法检测各种卵巢上皮性肿瘤中组织和细胞的 miRNAs 表达水平, 研究发现表达上调倍数最高的有 miR-200a/b/c/141, 并明确其与组织类型、淋巴血管和器官浸润、卵巢表面累及等相关。miR-200b/141 仅在内膜样和透明细胞卵巢癌升高, 而 miR-200a/c 在内膜样、透明细胞和浆液性卵巢癌中表达均升高。Hu 等^[15]通过对 55 例进展期卵巢癌研究发现 miRNA-200b/a/429 与卵巢癌的复发及生存率关系最为密切, 其中 miR-200 家族的高表达能够抑制肿瘤细胞的转移, 而低表达则预示着不良的预后。Bendoraitė 等^[16]针对 miR-200 家族成员可能作用的靶基因 ZEB1/ZEB2 进行研究发现在卵巢癌组织及细胞系中的表达明显下降, 这与 miR-200 的表达呈明显负相关, 从而在两者之间形成了一个双向的负性调节反馈环, 参与卵巢癌的发生发展过程。因此, miRNA-200 在卵巢癌进展中起着重要的作用。虽然 miRNA-200b 在卵巢癌的研究尚处初级阶段, 但随着研究的深入定能在抑制卵巢癌侵袭转移机制方面带来可喜的进展。

3.2 miRNA-200b 与宫颈癌、子宫内膜癌

寻找宫颈癌和子宫内膜癌的分子标志物对其早期发现和早期诊治具有重大意义。miRNA-200b 在不同肿瘤组织中存在明显的差异表达, 而表现出不同的调节功能。张占薪等^[17]探讨 miRNA-200b 在宫颈癌组织中的表达情况及与宫颈癌发生之间的关系, 其研究结果显示 miRNA-200b 在 36 例宫颈癌组织中的表达与癌旁正常宫颈组织相比显著升高 7.16 倍, 其中在中分化和低分化癌的表达显著高于高分化癌中的表达, 平均升高 8.62 倍。提示其与宫颈癌的发生发展有关。胡庆伟等^[18]通过荧光定量 PCR 检测子宫内膜癌组织中 miRNA-200b 的表达为 4.83 ± 2.98 , 而其在正常子宫内膜组织中仅为 0.98 ± 0.77 , 但是其高表达与年龄、组织学分级和临床分期均无相关性。因此, miRNA-200b 可以作为早期筛查的分子标志物, 但是不能用于鉴别早期和晚期肿瘤以及肿瘤的高分化与低分化。

3.3 miRNA-200b 与胰腺癌

近年来, 胰腺癌患者年轻化的趋势日趋明显, miRNA 在胰腺癌中的研究也取得了一些进展。Mees 等^[19]在高转移性胰腺导管癌的研究中发现 miRNA-200b 的表达是低转移性癌表达的 61.65 倍。

EP300是重要的肿瘤转移抑制基因,而 miRNA-200b能作用于靶基因 EP300使其表达显著降低,从而对胰腺导管腺癌的转移有抑制作用。EMT可被认为是决定肿瘤对化疗敏感/耐药与否的“开关”,有研究^[20]证明 miR-200 家族可以控制 EMT 的进程,从而提高化疗药物对 EGFR 的攻击敏感性,通过上调 miR-200 和 let-7 可以逆转吉西他滨耐药胰腺癌细胞的 EMT 特性。

3.4 miRNA-200b与胆管癌

胆管癌曾被认为是少见病,但随着诊断技术的不断发展,其检出率不断提高,发病率亦有上升的趋势。Meng等^[21]发现在胆管癌细胞株中 miRNA-200b 呈 7.6 倍上调表达,同时发现抑制 miR-200b 可提高癌细胞对化疗药吉西他滨的敏感性。经吉西他滨处理的肿瘤细胞,miR-200b 在体内外试验中均有明显升高。miRNA-200b 的潜在靶基因是 PTPN12 (protein tyrosine phosphatase, non-receptor type 12),其能通过对 c-Abl 及 Src 去磷酸化来抑制 Ras 通路从而起到抑癌基因的作用。因此,抑制 miRNA-200b 的表达可抑制肿瘤细胞增生,同时导致胆管癌细胞耐药性的降低。

4 展望

近年来,miRNAs 已经作为基因表达的强力调控因子成为肿瘤领域的研究热点,尤其是 miRNA-200 家族对上皮来源恶性肿瘤的细胞增殖、侵袭和转移等作用 and 机制的研究渐成为焦点。本课题组采用定量 PCR 的方法对 47 例胃癌患者癌组织和癌旁正常组织进行 miRNA-200b 表达的研究,结果显示与正常组织相比,miRNA-200b 在癌组织中呈显著低表达(待发表)。未来工作将进一步探讨其在胃癌早期诊断和治疗中的作用和机制,以及利用生物信息学技术继续寻找其潜在的分子靶基因,为临床应用提供理论和依据。

参考文献

- Dontu G, de Rinaldis E. MicroRNAs: shortcuts in dealing with molecular complexity[J]. *Breast Cancer Res*, 2010, 12(1): 301.
- Bonnet E, Tatari M, Joshi A, et al. Module network inference from a cancer gene expression data set identifies microRNA regulated-modules[J]. *PLoS One*, 2010, 5(4): e10162.
- Elson-Schwab I, Lorentzen A, Marshall CJ. MicroRNA-200 family members differentially regulate morphological plasticity and mode of melanoma cell invasion[J]. *PLoS One*, 2010, 5(10): e13176.
- Saydam O, Shen Y, Würdinger T, et al. Downregulated microRNA-200a in meningiomas promotes tumor growth by reducing E-cadherin and activating the Wnt/beta-catenin signaling pathway[J]. *Mol Cell Biol*, 2009, 29(21): 5923-5940.
- 李海明,施南峰.miRNA—一种新的调控基因表达的小分子RNA[J]. *中国癌症杂志*, 2006, 16(8): 675-679.
- Brabletz S, Brabletz T. The ZEB/miR-200 feedback loop—a motor of cellular plasticity in development and cancer[J]. *EMBO Rep*, 2010, 11(9): 670-677.
- Park SM, Gaur AB, Lengyel E, et al. The miR-200 family determines the epithelial phenotype of cancer cells by targeting the E-cadherin repressors ZEB1 and ZEB2[J]. *Genes Dev*, 2008, 22(7): 894-907.
- 杜平,张庆瑜.miR-200 家族在消化系统肿瘤中的研究进展[J]. *世界华人消化杂志*, 2011, 19(29): 3053-3057.
- Bracken CP, Gregory PA, Kolesnikoff N, et al. A double-negative feedback loop between ZEB1-SIP1 and the microRNA-200 family regulates epithelial-mesenchymal transition[J]. *Cancer Res*, 2008, 68(19): 7846-7854.
- Bindels S, Mestdagt M, Vandewalle C, et al. Regulation of vimentin by SIP1 in human epithelial breast tumor cells[J]. *Oncogene*, 2006, 25(36): 4975-4985.
- Murakami Y, Toyoda H, Tanaka M, et al. The progression of liver fibrosis is related with overexpression of the miR-199 and 200 families[J]. *PLoS One*, 2011, 6(1): e16081.
- Slaby O, Jancovicova J, Lakomy R, et al. Expression of miRNA-106b in conventional renal cell carcinoma is a potential marker for prediction of early metastasis after nephrectomy[J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2010, 7: 90-97.
- Han Y, Chen J, Zhao X, et al. MicroRNA expression signatures of bladder cancer revealed by deep sequencing[J]. *PLoS One*, 2011, 6(3): e18286.
- Iorio MV, Visone R, Di Leva G, et al. MicroRNA signatures in human ovarian cancer[J]. *Cancer Res*, 2007, 67(18): 8699-8707.
- Hu X, Macdonald DM, Huettner PC, et al. A miR-200 microRNA cluster as prognostic marker in advanced ovarian cancer[J]. *Gynecol Oncol*, 2009, 114(3): 457-464.
- Bendorait A, Knouf EC, Garg KS, et al. Regulation of miR-200 family microRNAs and ZEB transcription factors in ovarian cancer: evidence supporting a mesothelial-to-epithelial transition[J]. *Gynecol Oncol*, 2010, 116(1): 117-125.
- 张占薪,罗大虎,崔金全,等.has-miRNA-200b 在宫颈癌中的表达及意义[J]. *中国实用妇科与产科杂志*, 2010, 26(5): 386-387.
- 胡庆伟,杜英,梅丽娜,等.微小RNA-200 家族在子宫内膜癌中的表达及意义[J]. *中国预防医学杂志*, 2011, 12(3): 238-242.
- Mees ST, Mardin WA, Wendel C, et al. EP300—a miRNA-regulated metastasis suppressor gene in ductal adenocarcinomas of the pancreas[J]. *Int J Cancer*, 2010, 126(1): 114-124.
- Shah AN, Summy JM, Zhang J, et al. Development and characterization of gemcitabine-resistant pancreatic tumor cells[J]. *Ann Surg Oncol*, 2007, 14(12): 3629-3637.
- Meng F, Henson R, Lang M, et al. Involvement of human micro-RNA in growth and response to chemotherapy in human cholangiocarcinoma cell lines[J]. *Gastroenterology*, 2006, 130(7): 2113-2129.

(2011-11-30 收稿)

(2012-03-28 修回)

(本文编辑:邢颖)